Münster i/W. 1934. № 273 Med Diss

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

Die Wirkung von Antimon auf den anaeroben Kohlenhydrat-Stoffwechsel.

❖

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

vorgelegt von

Fritz Zacharias
aus Paderborn.

1933

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei Robert Kleinert, Quakenbrück.

Dekan: Prof. Dr. Esch.
Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann.
Correferent: Prof. Dr. K. Zipf.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Die Wirkung von Antimon auf den anaeroben Kohlehydrat-Stoffwechsel.

Chemisch und pharmakologisch steht das Antimon dem Arsen nahe. Die Verbindungen der beiden Elemente finden in der Medizin ausgedehnte Verwendung als ätiotrope Heilmittel für eine Reihe von Protozoenerkrankungen, wie Lues, Schlafkrankheit, Bilharzia und Kala-Azar. Die Abkömmlinge der dreiwertigen Elemente sind für tierische und pflanzliche Organismen weit giftiger als die der fünfwertigen Elemente.

Die resorptive Vergiftung mit den beiden Stoffen stimmt in allen wesentlichen Merkmalen überein: allgemeine Gefäßlähmung, besonders im Gebiete der Darmgefäße, Schwächung der Herz-Aktion und Lähmung des Zentralnervensystems.

Ueber die Stoffwechselwirkung der Antimonverbindungen wissen wir nur sehr wenig. Schlinker[1]) untersuchte in einer Arbeit aus dem hiesigen Institut eine Reihe von Dehydrierungsvorgängen im überlebenden Gewebe mit der Thunbergschen Methylenblau-Methode und erhob den bemerkenswerten Befund, daß nur dreiwertige Antimonverbindungen auf die Dehydrierungen einwirken; und zwar verschlechtern sie den Abbau der Milchsäure und der Glukose.

Alle übrigen Fermentsysteme werden nicht in Mitleidenschaft gezogen. Auffallend ist die geringe Wirksamkeit der Antimonverbindungen auf die Dehydrierungen bei der starken Toxizität im Tierkörper.

In der vorliegenden Arbeit soll eine weitere Stoffwechselleistung des Organismus untersucht werden und zwar die anaeroben Spaltungsvorgänge, die Kohlenhydrate in Milchsäure überführen.

---

[1]) Schlinker, Inauguraldissertation 1933.

Alle methodischen Angaben sind in den Arbeiten von Haarmann[2]) enthalten. Einzelheiten können daher übergangen werden.

Geprüft wurde die Stoffwechselwirkung von

1. Dreiwertigem Antimon in Form von Brechweinstein, Kaliumantimonyltartrat;
2. Fünfwertigem Antimon in Form von
   a) Kaliumpyrroantimoniat und
   b) Acetyl-p-amido-phenylstibinsaurem Natrium (Stibenyl).

Das Stibenyl entspricht in seiner Zusammensetzung genau dem Arsacetin (Acetyl-p-amido-phenylarsinsaures Natrium) mit dem Unterschied, daß das Arsen im Arsacetin durch Antimon ersetzt ist.

Die Einwirkung von Arsacetin auf die Milchsäurebildung war u. a. Gegenstand einer Arbeit von Olschar[3]) aus dem hiesigen Institut. Olschar konnte zeigen, daß der Glukoseabbau mit ansteigender Konzentration beschleunigt wird, desgleichen der Abbau des Glykogens und der Hexosediphosphorsäure bei mittleren Konzentrationen, während bei höheren Konzentrationen der Glykogenabbau unbeeinflußt bleibt, der Abbau der Hexosediphosphorsäure dagegen stark leidet. Auf den anaeroben Milchsäureschwund wirken mittlere Konzentrationen verbessernd, hohe Konzentrationen sind wirkungslos.

Um die Wirksamkeit der Verbindungen miteinander vergleichen zu können, wurden aequimolekulare Lösungen zu den Versuchen verwandt. Die Konzentration in den Lösungen ist in den Tabellen angegeben.

Geprüft wurde die Milchsäurebildung aus Glykogen, Hexosediphosphat und Glukose. Die Konzentration an diesen Stoffen in den Versuchsansätzen betrug stets für Glukose und Glykogen 0,2 %; für hexosediphosphorsaures Natrium dem niedrigeren Hexosegehalt entsprechend 0,4 %.

Versuchsserie I.

In den folgenden Versuchen wurde die Milchsäurebildung am Skelettmuskel des Kaninchens aus zugesetztem Glykogen untersucht.

---

[2]) Haarmann: Biochem. Z. 255, 103, 1932; 256, 326, 1932.

[3]) Olschar: Inauguraldissertation Münster/Westf. 1933.

Der Skelettmuskel nimmt im Kohlehydrat-Stoffwechsel unter allen Organen des Organismus eine Sonderstellung ein. Er baut in erster Linie Glykogen und Hexosediphosphat zu Milchsäure ab, während er Glukose nur in geringem Umfange verwertet. Als Energielieferung kommt für den Skelettmuskel vorwiegend das Glykogen in Betracht. Alle übrigen Organe verhalten sich genau umgekehrt. Für sie ist die Glukose die Hauptenergiequelle, während Glykogen nur in geringem Umfange zu Milchsäure gespalten wird.

Tabelle 1. Skelettmuskel, Kaninchen. Glykogenzusatz.

Nr.	Zugesetzte Antimon-Verbindungen	Milchsäure: mg-% direkt	Milchsäure: mg-% ohne jeden Zusatz	Glykogen: molare Konzentrationen der Antimon-Verbindungen 0,0	1.10^{-9}	1.10^{-7}	1.10^{-5}	1.10^{-3}
	Brechweinstein	580	590	1084	974	1014	1070	1188
1	Antimoniat			1084	1020	900	1014	990
	Stibenyl			1084	945	1020	1042	970
	Brechweinstein	606	762	1360	1110	1250	1370	1364
2	Antimoniat			1360	1325	1186	1180	1290
	Stibenyl			1360	1430	1248	1260	1534
	Brechweinstein	514	644	900	878	900	910	990
3	Antimoniat			900	875	790	795	824
	Stibenyl			900	960	944	850	874
	Brechweinstein	424	460	992	965	950	906	876
4	Antimoniat			992	855	780	792	820
	Stibenyl			992	854	834	834	884
	Brechweinstein	528	705	1014	840	894	813	813
5	Antimoniat			1014	1062	837	891	951
	Stibenyl			1014	840	849	912	822

Für das Studium des Glykogenstoffwechsels ist daher der Skelettmuskel das geeignete Untersuchungsmaterial, das deshalb auch in unseren Versuchen zur Anwendung kam.

Das Glykogen durchläuft eine ganze Reihe von Zwischenstufen, bis das Endprodukt des anaeroben Kohlehydratabbaues, das für alle Kohlehydrate die Milchsäure ist, erreicht ist. Diese

Zwischenreaktionen im Glykogenabbau sind gegen Gifte und gegen wechselnde Konzentrationen ein und desselben Giftes ganz verschieden empfindlich. Je nach der Konzentration kann derselbe fermentative Vorgang beschleunigt oder gehemmt werden. Der von uns beobachtete Endaffekt der Giftwirkung, der der Größenordnung der Milchsäureausbeute entspricht, gestattet uns nicht, über den feineren Mechanismus der Giftwirkung Aussagen zu machen.

Der Angriffspunkt von Giften beim Glykogenabbau kann bereits sehr weit oben in der Abbaureihe einsetzen. Das sind die hydrolytischen Spaltungsvorgänge, die das Glykogenmolekül über die sogenannten Zwischenkohlenhydrate, Di- und Trihexosane, in eine einfache Hexose überführen, die aber in keiner Weise mit der Alpha-, Beta-Glukose gleichgesetzt werden kann, da die Glukose nur in geringem Umfange Milchsäure bildet. Ein weiterer Angriffspunkt von Giften bei der Glykogenspaltung könnten die Gewebsphosphatesen bezw. Phosphatasen sein, da bekanntlich der Glykogenabbau an die Gegenwart von Phosphat gebunden ist, das mit Hexose verestert wird.

Schließlich kommen noch die Vorgänge in Betracht, die das Hexosemolekül in zwei Moleküle Triosen sprengen, die dann zur Milchsäure führen.

Die Versuchsergebnisse sind aus der Tabelle 1 zu entnehmen.

Die Versuche zeigen, daß die drei geprüften Antimonverbindungen auf den Glykogenabbau in nicht gleicher Weise einwirken. Je nach der Konzentration kommen Förderungs- oder Hemmungswirkungen der Antimonverbindungen zur Beobachtung. Die Wirkungskurven der drei Antimonverbindungen verlaufen in keinem Falle gleich. Auffällig ist, daß die Milchsäurebildung zumeist nicht, wie man erwarten könnte, mit ansteigender Konzentration herabgesetzt wird. Das Maximum der Hemmung liegt im Gegenteil sogar zumeist bei den stärkeren Verdünnungsgraden; mit ansteigender Konzentration verläuft die Milchsäurebildung gegenüber den schwächeren Konzentrationen beschleunigt.

Skelettmuskel von verschiedenen Tieren reagieren auf die Gifte nicht nur nicht in der gleichen Stärke, sondern nicht einmal in der gleichen Richtung. Die Grundwirkung der Antimonverbindungen ist eine Hemmung des Glykogenabbaues zur Milchsäure. Lediglich in einzelnen Fällen und bei bestimmten Konzentrationen kommt es zu einer Steigerung der Milchsäurebildung, die meist nur unerheblich ist. Dagegen ist die Hemmung der Milchsäurebildung oft sehr erheblich; sie kann bis zu 60 % ausmachen.

Bei welchen Abbauvorgängen die Giftwirkung einsetzt, läßt sich durch Milchsäurebestimmungen allein nicht entscheiden. Hierfür wäre es notwendig, genaue Glykogenbilanzen aufzustellen, in denen auch die übrigen Abbaustufen des Glykogens, vor allem die Zwischenkohlehydrate bestimmt werden. Die Versuche zeigen, daß bei der Antimonwirkung auf den Stoffwechsel der anaerobe Kohlehydrat-Stoffwechsel stark beteiligt ist.

Versuchsserie II.

Wie vorstehend schon beschrieben, verwertet der Skelettmuskel neben Glykogen Hexosediphosphorsäure in größerem Umfang zur Milchsäurebildung. Auch bei der Milchsäurebildung aus Hexosediphosphat müssen eine ganze Anzahl von Zwischenstufen durchlaufen werden, die anderer Art sind als die bei der Glykogenspaltung. Gifte müssen sich hierbei auf die Milchsäurebildung anders auswirken.

Tabelle 2. Skelettmuskel, Kaninchen. Hexosediphosphatzusatz.

Nr.	Zugesetzte Antimon-Verbindungen	Milchsäure: mg-%						
		direkt	Kontrollvers. ohne jeden Zusatz	Hexosediphosphat				
				molare Konzentrationen der Antimon-Verbindungen				
				0,0	1.10^{-9}	1.10^{-7}	1.10^{-5}	1.10^{-3}
	Brechweinstein	580	590	1134	1115	1030	1042	970
1	Antimoniat			1134	1164	1386	1260	1134
	Stibenyl			1134	1124	1078	1064	1040
	Brechweinstein	514	644	1052	1108	795	885	1038
2	Antimoniat			1052	1020	990	965	755
	Stibenyl			1052	1030	1092	1008	972
	Brechweinstein	424	460	568	730	630	576	532
3	Antimoniat			568	576	630	710	665
	Stibenyl			568	704	670	666	540
	Brechweinstein	528	705	897	900	975	952	960
4	Antimoniat			897	918	903	897	981
	Stibenyl			897	921	1029	927	831
	Brechweinstein	681	738	915	1383	1296	1290	1380
5	Antimoniat			915	1320	1356	1359	1350
	Stibenyl			915	1356	1470	1458	1368

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Für die Versuche mit Hexosediphosphat als Substrat gilt das gleiche wie das für die Glykogenversuchte Gesagte. Das Milchsäurebildungsvermögen ist ganz von der Konzentration der Antimonverbindungen abhängig. Das Verhalten von Geweben verschiedener Tiere ist sehr starken individuellen Schwankungen unterworfen. Die zur Beobachtung kommenden Steigerungen der Milchsäurebildung sind oft sehr erheblich, zumeist stärker als beim Glykogenabbau. Besonders eindrucksvoll sind die Versuche 4 und 6. In Versuch 6 beträgt die maximale Steigerung über 300 %. Die wirksamen Konzentrationen liegen für die drei Antimonverbindungen bei ganz verschiedenen Verdünnungen. Antimon in organischer Bindung wirkt ganz anders als in anorganischer. Besonders auffallend sind die Versuche 1 der Tabelle 1 und 2, die an gleichen Geweben desselben Tieres angestellt wurden. Sie lassen erkennen, daß die Wirkung der Gifte für den Abbau des Glykogens und des Hexosediphosphats genau entgegengesetzt verläuft. Beim Glykogenabbau liegt die maximale Hemmung bei der stärksten Verdünnung von Brechweinstein; bei dem Abbau des Hexosediphosphates dagegen bei der stärksten Konzentration. Antimoniat schädigt die Glykogenspaltung zu Milchsäure am stärksten bei einer Verdünnung von 1×10^{-7} mol, während die Milchsäurebildung aus Hexosediphosphat von der gleichen Konzentration maximal angeregt wird.

Worauf die unterschiedliche Reaktionsweise der Gewebe auf die Giftwirkung beruht, ist noch gänzlich unbekannt; wahrscheinlich spielen hormonale Einflüsse eine große Rolle. Man muß dabei vor allem an den wechselnden Zustand der Schilddrüse denken. Auffällig ist, daß die beobachtete Mehrbildung an Milchsäure gegenüber dem Kontrollversuch besonders in den Fällen sehr erheblich ist, in denen Hexosediphosphat allein nur zu einer geringen Zunahme der Milchsäure geführt hat. Ist jedoch die Milchsäurebildung im Kontrollversuch sehr erheblich, dann werden starke Hemmungen der Milchsäurebildung sichtbar, die andernfalls ausbleiben.

Versuchsserie III.

In der folgenden Versuchsserie soll der Abbau der Glukose durch Herzmuskelgewebe besprochen werden. Herzmuskelgewebe ist für die Untersuchung des Glukoseabbaues deshalb sehr geeignet, weil dieses Kohlehydrat zur Bestreitung des Energiehaushaltes im Herzmuskel herangezogen wird.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

Wie beim Abbau des Hexosediphosphates ist die Wirkungsrichtung der drei Gifte von der Größe des Glykolysevermögens der Herzen abhängig. Je geringer die Milchsäurebildung um so energischer greifen die Gifte in die Abbauvorgänge der Glukose ein.

Tabelle 3. Herz, Hund. Glukose.

Nr.	Zugesetzte Antimon-Verbindungen	Milchsäure: mg-% direkt	Kontrollvers. ohne jeden Zusatz	Glukose: molare Konzentrationen der Antimon-Verbindungen 0,0	1.10^{-9}	1.10^{-7}	1.10^{-5}	1.10^{-3}
	Brechweinstein	300	450	840	948	972	1014	870
1	Antimoniat			840	1176	1110	1080	1068
	Stibenyl			840	1116	1122	1098	1062
	Brechweinstein	204	312	1020	1008	1020	960	864
2	Antimoniat			1020	1050	1128	1056	870
	Stibenyl			1020	1038	1170	1032	870

Die Steigerungen der Milchsäureausbeute sind sehr erheblich. Hemmungswirkungen kommen bei keiner Konzentration zur Beobachtung. Vergleiche Versuch 1. Anders liegen die Verhältnisse dann, wenn die Milchsäuremengen im Kontrollversuch bereits sehr hoch sind. Steigerungen der Milchsäurebildung bleiben dann entweder vollkommen aus oder sind nur geringfügig. In höheren Konzentrationen setzt dann eine starke Hemmung ein. Die geringste Stoffwechselwirkung besitzt der Brechweinstein. Die beiden fünfwertigen Antimonverbindungen, anorganische wie organische, sind ungefähr gleich stark wirksam.

Eine Umkehr im Wirkungsbild von Giften fand O. Kaufmann[4]) für aluminium- und borsaure Salze. Ist die Glykolyse sehr groß, dann besteht die Giftwirkung in einer Hemmung, ist sie dagegen niedrig, in einer starken Steigerung der Milchsäurebildung.

[4]) O. Kaufmann, Inauguraldissertation 1933.

Versuchsserie IV.

Die Hirnglykolyse verläuft auf anderen Wegen wie die Herzglykolyse. Für die Milchsäurebildung aus Glykose im Hirngewebe spielt die Phosphorsäure keine Rolle. Sie greift hier nicht wie bei der Herzglykolyse in die intermediären Stoffwechselvorgänge ein.

Die Versuchsergebnisse gehen aus Tabelle IV hervor.

Im großen und ganzen verläuft die Hirnglykolyse bei Gegenwart der Antimonverbindungen ungestört. Ist die Milchsäurebildung aus Glukose gering, dann kommen, das gilt für das Stibenyl und Antimoniat, Steigerungen der Milchsäurewerte zur Beobachtung. Im Gegensatz zur Herzglykolyse wird die Hirnglykolyse durch Antimonverbindungen nicht herabgesetzt. Dies ist ein Beitrag für die Frage der Verschiedenartigkeit der Abbauvorgänge ein und derselben Verbindung durch tierisches Gewebe.

Versuchsserie V.

In den bisher beschriebenen Versuchen wurde die Milchsäurebildung im Gewebe aus zugesetzten Kohlehydraten verfolgt. Es soll nunmehr das anaerobe Verschwinden der Milchsäure, das als ein Entgiftungsvorgang der Milchsäure aufzufassen ist, besprochen werden. Dieser anaerobe Milchsäureschwund wurde von Haarmann[5]) aufgefunden und näher untersucht. Um den anaeroben Milchsäureschwund nachweisen zu können, ist es notwendig, eine Nachbildung der Milchsäure aus Kohlehydrat zu unterdrücken; dies erreichte Haarmann durch Zusatz von Monobromacetat in einer Konzentration von 1 : 500. Das anoxybiontische Verschwinden der Milchsäure läßt sich bei allen Organen nachweisen; besonders geeignet für sein Studium ist das Leber- und Hirngewebe.

Wie aus den Versuchen der Tabelle 5 hervorgeht, verhalten sich Leber- und Hirngewebe verschieden. Im Lebergewebe wird das anaerobe Verschwinden der Milchsäure beschleunigt, im Hirngewebe dagegen verschlechtert. Das Optimum der Wirkung liegt für die drei Antimonverbindungen bei verschiedenen Konzentrationen. Dieses unterschiedliche Verhalten von Hirn- und Lebergewebe konnte Haarmann[6]) in noch unveröffentlichten Versuchen für eine ganze Reihe von Pharmazis zeigen. Das würde bedeuten, daß der Organismus über verschiedenartige Wege verfügt, die Milchsäure anaerob zum Verschwinden zu bringen.

---

[5]) Haarmann: Biochemische Zeitschrift 256, 326, 1932.

[6]) Haarmann, unveröffentlichte Versuche.

Tabelle 4. Hirn, Hund. Glukose.

Nr.	Zugesetzte Antimon-Verbindungen	Milchsäure: mg-% direkt	Kontrollversuch ohne jeden Zusatz	Glukose: molare Konzentrationen der Antimon-Verbindungen 0,0	1.10^{-9}	1.10^{-7}	1.10^{-5}	1.10^{-3}
	Brechweinstein	171	157	615	625	630	630	608
1	Antimoniat			615	625	630	648	675
	Stibenyl			615	780	720	724	738
	Brechweinstein	228	234	978	1014	1002	980	980
2	Antimoniat			978	980	998	960	960
	Stibenyl			978	950	980	990	1046

Tabelle 5. Monobromazetat.

Nr.	Zugesetzte Antimon-Verbindungen	Milchsäure: mg-% direkt Laktat	Monobrom. + Laktat: molare Konzentration der Antimonverbindungen 0,0	1.10^{-9}	1.10^{-7}	1.10^{-5}	1.10^{-3}	Organ und Versuchstier
	Brechweinstein	1336	1032	1040	956	920	915	
1	Antimoniat		1032	996	935	870	975	Leber
	Stibenyl		1032	885	820	890	946	Kaninchen
	Brechweinstein	1023	885	861	915	885	870	
2	Antimoniat		885	912	765	786	819	Leber
	Stibenyl		885	894	912	816	816	Kaninchen
	Brechweinstein	1570	1380	1416	1360	1560	1650	
3	Antimoniat		1380	1600	1620	1628	1700	Hirn
	Stibenyl		1380	1550	1570	1440	1480	Hund

Zusammenfassung.

Es wurde die Milchsäurebildung im überlebenden Gewebe aus einigen Kohlehydraten, Glykogen, Hexosediphosphat und Glukose geprüft; ferner der anaerobe Milchsäureschwund unter der Einwirkung von Antimonverbindungen.

Untersucht wurden drei- und fünfwertige Antimonverbindungen. In der Wirkungsstärke und auch in der Wirkungsrichtung dieser Antimonverbindungen bestehen erhebliche Unterschiede. Je nach der Konzentration wird die Milchsäurebildung gesteigert oder gehemmt. Bemerkenswert ist, daß häufig die stärkste Hemmung mit der stärksten Verdünnung zusammen fällt, die Wirkungsstärke also mit der Verdünnung ansteigt. Die Wirkungsrichtung der Gifte ist weitgehend von dem Milchsäurebildungsvermögen der Gewebe abhängig. Ist die Milchsäurebildung ohne Zusatz der Antimonverbindungen nur gering, dann zeigen sich lediglich Steigerungen der Milchsäurebildung; ist dagegen die Milchsäurebildung ohne Zusatz sehr groß, dann tritt eine starke Hemmung der Milchsäurebildung ein.

Da das Milchsäurebildungsvermögen der Gewebe hormonalen Einflüssen stark unterliegt, stellt diese Arbeit zugleich einen Beitrag dar zur Frage der individuellen Reaktion auf Gifte.

LEBENSLAUF.

Am 18. 2. 1908 wurde ich als Sohn des Eisenbahn-Ingenieurs Franz Zacharias und seiner Gemahlin Marie geb. Börger in Beverungen a. d. Weser geboren. Volksschule und Gymnasium besuchte ich in Paderborn. 1927 begann ich mein medizinisches Studium an der Universität Würzburg. Das Physikum machte ich im Sommer 1929 in Rostock. Meine klinischen Semester erledigte ich, mit Ausnahme eines in Innsbruck, alle in Münster. Hier bestand ich am 19. Dezember 1932 mein medizinisches Staatsexamen.